

Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Katedra analytické chemie



DIPLOMOVÁ PRÁCE

Vývoj umělého zubu založený na technice povrchové
plasmové resonance (SPR)

SOUHRN

Hradec Králové 2009

Kateřina Solanská

Hlavním cílem této práce bylo vytvoření umělého zubu a následné testování jeho funkčnosti pomocí Surfové plasmové resonance (SPR). Sensory založené na resonanci povrchového plasmonu umožňují sledování dějů doprovázených změnou indexu lomu v blízkosti povrchu sensoru v reálném čase.

Připravené senzory byly použity pro monitorování absorpce proteinů obsažených ve slinách. Výhoda takto připravených senzorů je, že můžeme sledovat časovou závislost reakce a následně určit například kinetiku reakce.

Prvním krokem bylo vyčistit a aktivovat povrch senzorů. K tomu byl využit roztok kyseliny sírové s peroxidem vodíku (3:1) a roztok hydroxydu draselného s peroxidem vodíku (1:1).

Po aktivování povrchu senzorů byla připravena suspenze nanočástic hydroxyapatitu v bezvodém etanolu (0.5g/250ml). Pro nanesení hydroxyapatitu na senzor byla zvolena metoda elektroforézy. 12 ml připravené suspenze bylo použito jako elektrolyt, vzdálenost mezi elektrodami byla přibližně 5-6mm. Na elektrody bylo dodáváno napětí 5V po dobu 10 vteřin. Takto připravený povrch mohl být použit pro další testování.

Pro ověření funkčnosti umělého zubu byla první měření provedena s hovězím sérovým albuminem (BSA). Senzor byl přikryt speciálním rámečkem, který obsahoval osm kanálů s objemem 40μl a poté byl vložen do SPR přístroje. Následně byl čip nejdříve promyt 15 μl destilované vody a po jejím odstranění bylo naneseno 15 μl BSA. Po 15 minutách byl senzor opět promyt destilovanou vodou.

Při tomto pokusu došlo ke změně refrakčního indexu, což znamenalo, že proteiny z BSA jsou schopny absorpce na vytvořenou hydroxyapatitovou vrstvu. Jako srovnávací měření byla použita destilovaná voda, ale jelikož neobsahuje žádné proteiny ke změně refrakčního indexu nedošlo.

Na základě těchto výsledků mohl být umělý zub použit pro měření s přírodní a umělou slinou.

Při tomto měření byly zachovány stejné podmínky jako s BSA. Z dosažených výsledků vyplývá, že přírodní sliny oproti umělým obsahují vyšší množství proteinů, které jsou schopny se absorbovat na hydroxyapatitovou vrstvu.

Po důkazu, že proteiny obsažené ve slinách mohou být detekovány, byl proveden experiment s účinnou složkou ústních vod chlorhexidin digluconatem. Senzor byl nejdříve promyt 15 μ l destilované vody, po jejím odstranění bylo nanášeno 15 μ l přírodní sliny a byla zaznamenána změna v refrakčním indexu. Po přidání 15 μ l ústní vody s obsahem chlorhexidin digluconátu byl pozorován opět vzestup maxima. Konečné promytí bylo provedeno opět s přírodní slinou.

Po přidání chlorhexidin digluconátu a promytí s přírodní slinou byl pozorován vzestup signálu. To znamená, že antimikrobiální složky byly navázány na povrch umělého zubu. Z těchto výsledků vyplývá, že proteiny obsažené ve slinách byly díky chlorhexidin digluconátu odstraněny a následně mohla být navázána nová vrstva slin. Rychlý sestup signálu a následný vzestup signálu po promytí se slinou ukazuje, že komponenty chlorhexidin digluconátu mohou být lehce odstraněny z povrchu umělého zubu.